

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

NGUYỄN KHOA TRƯỜNG

NGHIÊN CỨU KHU HỆ NĂM NGOẠI CỘNG SINH TRÊN
HỆ RỄ THÔNG NĂM LÁ (*Pinus dalatensis* Ferré) VÀ THÔNG
HAI LÁ ĐỆT (*Pinus krempfii* Lecomte) TẠI RỪNG HỒN
GIAO Ở CAO NGUYÊN LÂM VIÊN ĐỂ BẢO TỒN ĐA
DẠNG SINH HỌC

Chuyên ngành: Sinh thái học
Mã số: 9.42.01.20

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

- PGS.TS. Lê Bá Dũng
- TS. Phạm Nguyễn Đức Hoàng

LÂM ĐỒNG, NĂM 2024

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Đà Lạt
Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Lê Bá Dũng
Người hướng dẫn khoa học 2: TS. Phạm Nguyễn Đức Hoàng

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án Tiến sĩ họp
tại..... Trường Đại học Đà Lạt vào hồi giờ ngày tháng
năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Trung tâm Thông tin - thư viện Đại học Đà Lạt
- Website <http://www.dlu.edu.vn>.

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết

Nấm ngoại cộng sinh (Ectomycorrhizal - ECM) có vai trò quan trọng trong đời sống thực vật, cung cấp nước và dinh dưỡng Thông qua quá trình chuyển hoá dinh dưỡng (carbohydrate từ đất sang rễ để phát triển hệ sợi cũng như quả thể của nấm) (Agerer, 2006). Trong quá khứ, việc phân loại nấm ngoại cộng sinh là một thách thức, bởi lẽ các bằng chứng để nhận diện chúng là rất giới hạn (Tedersoo et al., 2010; Ryberg và Matheny, 2011). Do đó, không có nhiều nghiên cứu liên quan nấm ngoại cộng sinh, với khoảng 400 kết quả nghiên cứu đã công bố liên quan kể từ khi nấm cộng sinh được mô tả lần đầu bởi Frank (1885) cho đến khi nấm ngoại cộng sinh được tiếp tục nghiên cứu và phát triển bởi Trappe (1962). Điều đặc biệt là trong khoảng thời gian đó, có rất nhiều loài mới được công bố hoặc nhiều bậc phân loại từ nấm cộng sinh (mycorrhiza) được khẳng định là nấm ngoại cộng sinh, ngoài ra có nhiều công bố liên quan đến sinh lý, sinh thái cũng như so sánh khả năng cộng sinh giữa các loài (Trappe, 1962). Trong khoảng thời gian 15 năm tiếp theo, các kết quả nghiên cứu đã tập trung chứng minh một cách rõ ràng về điều kiện cộng sinh của nấm (Trappe, 1977). Hơn thế nữa, sự cộng sinh thành công của nấm đã chỉ ra rằng giới hạn của các kiểu rừng cộng sinh cũng phản ánh sự đa dạng của nấm ngoại cộng sinh (Arnolds, 1991).

Các nghiên cứu ở giai đoạn đầu chủ yếu nghiên cứu về hình thái và sinh thái, tiếp đến sinh lý và di truyền. Hiện nay, kỹ thuật sinh học phân tử kết hợp với hình thái là công cụ tối ưu để phân loại và xây dựng mối quan hệ giữa các bậc phân loại thuộc nấm ngoại cộng sinh. Từ đó có nhiều công nghiên cứu khác nhau liên quan đến nấm ngoại cộng sinh với nhiều chủ đề khác nhau đã được xuất bản.

Nhiều nghiên cứu khác nhau chỉ ra rằng, một loài nấm có thể cộng sinh với nhiều loài cây chủ khác nhau và ngược lại và mối quan hệ cộng sinh này có thể có hoặc không có, tuy nhiên đối

với họ Thông (Pinaceae), mối quan hệ cộng sinh này là bắt buộc (Mohatt et al., 2008; Smith và Read, 2008; Tedersoo et al., 2010; Murata et al., 2017; Koizumi và Nara, 2020). Do vậy, nấm ngoại cộng sinh có vai trò quan trọng đối với sự sinh trưởng của thực vật nói chung và cây thuộc họ Thông nói riêng.

Ở Việt Nam, Thông năm lá (*Pinus dalatensis*) và Thông hai lá dẹt (*Pinus krempfii*) đều là các loài phân bố hẹp, tuy nhiên hiện nay chúng đang trong tình trạng bị đe dọa cấp V (Vulnerable) đối với Thông hai lá dẹt và được xếp vào cấp NT (Near Threatened: sắp bị đe dọa) đối với Thông năm lá (Phan Kế Lộc và cộng sự, 2013; IUCN, 2019). Hiện nay, cả hai loài Thông này có sự phân bố thưa thớt, ngày càng bị thu hẹp với số lượng cá thể trong các quần thể liên tục giảm và gặp khó khăn trong việc tái sinh. Cho đến nay, có rất nhiều nghiên cứu về phân loại và điều kiện sinh thái của Thông năm lá và Thông hai lá dẹt. Tuy nhiên, hiện nay chưa có nghiên cứu nào về khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên hai đối tượng này được thực hiện và công bố ở Việt Nam cũng như trên thế giới.

Vì vậy, để có cái nhìn tổng quát về nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá và Thông hai lá dẹt cũng như có cách tiếp cận hiệu quả nguồn tài nguyên có giá trị này, việc nghiên cứu từ hình thái, đến phân loại các nhóm nấm ngoại cộng sinh và vai trò của chúng mang lại đối với thực vật rừng nói chung và họ Thông nói riêng nhằm để làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo. Bên cạnh đó, các kết quả từ nghiên cứu này không chỉ mang lại giá trị khoa học gắn với thực tiễn, hỗ trợ cho việc nhân giống, gây trồng, tái sinh rừng hướng đến bảo tồn đa dạng sinh học và phát triển hai loài Thông này nhằm phục hồi rừng và duy trì hệ sinh thái.

Xuất phát từ những vấn đề nêu trên, chúng tôi thực hiện đề tài **“Nghiên cứu khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá (*Pinus dalatensis* Ferré) và Thông hai lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte) tại rừng hỗn giao ở Cao nguyên Lâm Viên để bảo tồn đa dạng sinh học”**.

2. Mục tiêu của luận án

Mục tiêu chung: Xác định khu hệ và vai trò của nấm ngoại cộng sinh đối với Thông năm lá (*P. dalatensis*) và Thông hai lá dẹt (*P. krempfii*) ở cao nguyên Lâm Viên hướng đến tạo tiền đề cho công tác bảo tồn, tái tạo và phát triển rừng với hai loài Thông quý hiếm này cũng như bảo tồn đa dạng sinh học nói chung.

Mục tiêu cụ thể

- Xác định cấu trúc khu hệ nấm ngoại cộng sinh ở kiểu rừng hỗn giao bao gồm Thông năm lá (*P. dalatensis*) và Thông hai lá dẹt (*P. krempfii*) ở Cao nguyên Lâm Viên.
- Xác định các loài nấm ngoại cộng sinh đóng vai trò trong giai đoạn phát triển ban đầu của cây con hai loài Thông trên, từ đó tạo cơ sở khoa học cho việc đề xuất các giải pháp hỗ trợ cho công tác nhân giống, bảo tồn.

3. Nội dung nghiên cứu

1. Điều tra, xác định khu vực nghiên cứu và thu thập số liệu thực địa.
2. Khảo sát cấu trúc khu hệ nấm ngoại cộng sinh hiện diện trong khu hệ rễ tại rừng hỗn giao Thông năm lá và hai lá dẹt ở cao nguyên Lâm Viên.
3. Xác định các loài nấm ngoại cộng sinh đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn phát triển ban đầu của cây con tái sinh từ hạt nhằm hỗ trợ cho công tác nhân giống, bảo tồn.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Ý nghĩa khoa học:

- Nghiên cứu này sẽ bổ sung dữ liệu nấm ngoại cộng sinh Thông qua các mô tả đặc điểm hình thái chóp rễ nấm và dữ liệu sinh học phân tử từ khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên cây Thông năm lá và cây Thông hai lá dẹt.

- Xác định một số nhóm nấm ngoại cộng sinh xuất hiện đầu tiên trên hệ rễ cây con Thông năm lá, Thông hai lá dẹt và đánh giá ảnh hưởng của chúng đến tỷ lệ sống và tăng khả năng sinh trưởng của cây.

Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả nghiên cứu của đề tài là tiền đề để ứng dụng các nhóm nấm ngoại cộng sinh góp phần thực hiện các nghiên cứu khác phục vụ cho công tác bảo tồn cũng như trong công tác nhân giống và trồng rừng.

5. Những điểm mới của luận án

Cho đến nay, các nhà khoa học ở Việt Nam cũng như trên thế giới chưa có nghiên cứu nào về khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên rừng hỗn giao Thông năm lá và Thông hai lá dẹt ở cao nguyên Lâm Viên. Vì vậy, kết quả nghiên cứu của đề tài đã bổ sung 33 loài nấm ngoại cộng sinh trên Thông năm lá và 41 loài nấm ngoại cộng sinh trên Thông hai lá dẹt vào cơ sở dữ liệu nấm ngoại cộng sinh trên họ Thông (Pinaceae). Cũng như kết quả nghiên cứu liên quan đến việc đánh giá ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh đến tỷ lệ sống và sinh trưởng của cây con thuộc hai loài Thông này để làm tiền đề cho công tác nhân giống và trồng rừng.

6. Cấu trúc của luận án

Luận án gồm 113 trang, trong đó có 14 bảng, 81 hình. Cấu trúc bao gồm Phần mở đầu: 4 trang; Chương 1: Tổng quan tài liệu: 30 trang; Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 9 trang; Chương 3: Kết quả và thảo luận: 68 trang; Kết luận – tồn tại và kiến nghị: 2 trang; Tài liệu tham khảo: 30 trang và Phụ lục 71 trang.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Một số đặc điểm của nấm ngoại cộng sinh

Nấm ngoại cộng sinh là hiện tượng cộng sinh giữa nấm và rễ thực vật. Nấm ngoại cộng sinh được đặc trưng bởi sự hiện diện của ba thành phần cấu trúc: lớp phủ, lưới Hartig và sợi nấm phát triển bên ngoài (những sợi nấm không có liên kết với tế bào thực vật) tạo thành các liên kết thiết yếu giữa các phần tử và hình thành nên nấm ngoại cộng sinh. Hầu hết tất cả các cây mà nấm ngoại cộng sinh phát triển đều là cây thân gỗ lâu năm. Nấm ngoại cộng sinh có một vai trò quan trọng trong việc hỗ trợ cây trồng phát triển, cải tạo đất và phục hồi môi trường sinh thái tự nhiên (Mikola, 1988; Smith & Read, 2008).

Nấm ngoại cộng sinh có rất nhiều đặc điểm hình thái và cấu trúc khác nhau, do đó để hiểu rõ và định danh chính xác một loài nấm nào đó thì cần phải tiến hành mô tả những đặc điểm liên quan đến nó. Các đặc điểm cần phải quan tâm là các đặc điểm chung của nấm ngoại cộng sinh bao gồm như hình dạng, màu sắc, bề mặt và cấu trúc hiển vi của chúng (Trappe, 1967; Zak, 1991, 1993; Agerer, 1987-2002; Goodman et al., 1996; Trofymow et al., 2001). Với sự phát triển của khoa học công nghệ, đặc biệt là kỹ thuật sinh học phân tử, định danh nấm ngoại cộng sinh đã có thể trở nên dễ dàng hơn và cũng cung cấp nhiều hiểu biết hơn về phân loại và di truyền của các loài nấm ngoại cộng sinh (Smith & Read, 2008; Nara, 2006, Koizumi & Nara, 2020).

1.2. Sự phát sinh hình thái nấm ngoại cộng sinh

Trong quá trình hình thành và phát triển của hệ sinh thái, các nhóm nấm ngoại cộng sinh đã xuất hiện từ rất sớm. Dựa trên một số mẫu hóa thạch của nấm ngoại cộng sinh được tìm thấy trên thế giới, cùng với các kiến thức về di truyền thực vật và nguồn gốc địa lý, các nhà khoa học cho rằng nấm ngoại cộng sinh đã xuất hiện cách đây hơn năm mươi triệu năm trước (Le Page et al., 1997). Trappe (1987) cho rằng các loài nấm ngoại cộng sinh có nguồn gốc hơn 50 triệu năm trước. Việc xác định

các loài nấm ngoại cộng sinh bằng kỹ thuật sinh học phân tử và các bằng chứng về niên đại của chi *Rhizopogon* đã xác nhận rằng các hóa thạch của nấm ngoại cộng sinh đã xuất hiện cách đây 130 triệu năm trước (Axelrod, 1986; Smith and Read, 2008).

Nghiên cứu về họ *Sarcolaenaceae* và họ *Rhizopogonaceae* cùng cộng sinh trên quần thể Dầu khộp (Dipterocarpaceae) sinh trưởng ở Nam Mỹ và Đông Nam Á, các nhà khoa học cho rằng nấm ngoại cộng sinh trong quần thể Dầu khộp tại Đông Nam Á đã bắt đầu hình thành vào thời điểm trước khi vùng đất Ấn Độ tách ra khỏi lục địa Madagascar – Đông Phi khoảng 88 triệu năm trước, và các quần thể Dầu khộp ở Nam Mỹ cũng đã hình thành nấm ngoại cộng sinh trước khi lục địa Nam Mỹ - Châu Phi bị chia cắt khoảng 135 triệu năm trước (Ducousso et al., 2004; Moyersoen, 2006; Smith and Read, 2008).

Những loài nấm có mối quan hệ ngoại cộng sinh với các họ Pinaceae, Dipterocarpaceae và Fagaceae gần như chắc chắn có nguồn gốc từ siêu lục địa Gondwana trong kỷ Phấn Trắng (144 - 65 triệu năm trước) và phát tán qua thời gian. Trong quá trình chuyển tiếp từ kỷ Eocen sang kỷ Oligocen (khoảng 37 triệu năm trước) là thời kỳ khí hậu lạnh đi, tại các khu rừng ôn đới các cây có nấm ngoại cộng sinh thuộc họ Fagaceae và họ Pinaceae đã trở nên phổ biến ở Bắc bán cầu (Tallis, 1991). Do đó, đây là khoảng thời gian đặc biệt để xác định các loài nấm ngoại cộng sinh (Bruns et al., 1998).

1.3. Đa dạng thành phần loài nấm ngoại cộng sinh

Nấm ngoại cộng sinh thường được ghi nhận ở nhóm nấm lớn, hay nấm có thể nhìn thấy được bằng mắt thường, và xuất hiện trên hệ rễ nhóm cây gỗ lâu năm như Thông, sồi, dương, dầu, bạch đàn, ... Có khoảng 6.000 loài thực vật và khoảng 20.000 - 25.000 loài nấm có khả năng hình thành tổ hợp nấm ngoại cộng sinh (Brundett, 2009). Các loài này chỉ chiếm một phần nhỏ trong tổng số khoảng 220.000 - 420.000 loài thực vật và khoảng 1.500.000 loài nấm. Tuy nhiên, nấm ngoại cộng sinh đóng một vai trò quan trọng đối với các hệ thực vật trên toàn cầu do cây

chủ cộng sinh thường là các cây đóng vai trò chính trong các hệ thực vật (cây thuộc tầng vượt tán rừng) như các cây thuộc họ Thông (Pinaceae), họ Dẻ (Fagaceae), họ Bạch dương (Betulaceae), họ Sồi phương nam (Nothofagaceae), họ phụ Leptospermoidae thuộc họ Sim (Myrtaceae) (bao gồm cả chi *Eucalyptus*), họ Dầu (Dipterocarpaceae) và nhóm Amhersteae thuộc phân họ Vang (Caesalpiniaceae) (Tedersoo et al., 2010).

1.4. Vai trò của nấm ngoại cộng sinh đối với thực vật và hệ sinh thái rừng

Từ lâu, người ta đã nhận thấy được sự biến đổi trong cấu trúc và chức năng của các nấm rễ. Tuy nhiên, các nghiên cứu đã chứng minh rằng ở một số loài nấm xuất hiện rộng rãi nhất, chẳng hạn như *Pisolithus tinctorius* (Burgess et al., 1995; Lamhamedi and Fortin, 1991; Lamhamedi et al., 1990), *Laccaria bicolor* (Kropp et al., 1987; Wong et al., 1989; Yamada et al., 2006) và *Hebeloma cylindrosporium* (Debaud et al., 1986; Marmeisse et al., 1992) mức độ biến đổi đặc hiệu có thể lớn như mức độ khác nhau giữa các loài. Kropp and Trappe (1982) thấy rằng các loài cây con vừa mới nảy mầm có sự tương thích với một số loài nấm chuyên biệt hơn là những loài nấm cộng sinh với những cây trưởng thành trong rừng. Molina et al. (1992) chỉ ra rằng tính đặc hiệu giữa cây con và nấm tương thích làm tăng cơ hội tiếp xúc giữa chúng và thúc đẩy sự phát triển của cả hai loài khi không có loài nấm khác cạnh tranh.

Hơn 5.000 loài nấm ngoại cộng sinh có ảnh hưởng sâu sắc đến hệ sinh thái bằng cách hút chất dinh dưỡng và nước bảo vệ rễ cây khỏi mầm bệnh và các tác nhân môi trường, đồng thời duy trì cấu trúc đất và lưới thức ăn rừng. Tính đa dạng của nấm ngoại cộng sinh có khả năng hỗ trợ phục hồi hệ sinh thái rừng khi đối mặt với các yếu tố môi trường đang thay đổi như ô nhiễm và biến đổi khí hậu toàn cầu.

1.5. Tổng quan về Thông năm lá (*Pinus dalatensis* Ferré) và Thông hai lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte)

Thông năm lá có tên khoa học là *Pinus dalatensis* Ferré được nhà thực vật học người Pháp là Ferré mô tả vào năm 1960 (Businsky, 1999). Đây là loài phân bố nhiều ở Lâm Đồng và là loài cây gỗ quý hiếm của Việt Nam. Chúng có giá trị khoa học cao, được xếp vào nhóm IIA theo nghị định số 06/2019/NĐ-CP và nhóm sắp nguy cấp (NT- Near Threatened) trong danh sách đỏ của IUCN năm 2019 (Phan Kế Lộc và cộng sự, 2013; Chính phủ, 2019; IUCN, 2019; Tran, 2011).

Thông hai lá dẹt có tên khoa học là *Pinus krempfii* Lecomte, còn gọi là Thông Sri, Thông Sré, là loài đặc hữu, phân bố độc nhất ở Việt Nam tại các tỉnh Khánh Hòa, Lâm Đồng, Đắk Lắk và Ninh Thuận. Theo phân loại, Thông hai lá dẹt thuộc giới Plante, ngành Pinophyta, lớp Pinopsida, bộ Pinales, họ Pinaceae, chi *Pinus* (WFO, 2023). Ban đầu loài Thông này được gọi là *Pinus krempfii* Lecomte (thuộc họ Abietaceae) mang tên nhà thực vật học người Đức M. Krempf, người đầu tiên thu mẫu vật Thông hai lá dẹt ở thượng nguồn Sông Mao trên độ cao 1.300m. Sau này nhà thực vật người Pháp là A. Chevalier đã lấy tên Ducamp, một quản đốc thủy lâm người Pháp để đặt tên cho loài là *Ducampopinus krempfii* (Lec) A. Chev. Nhưng cuối cùng thì tên chuẩn được sử dụng là *Pinus krempfii* Lecomte, và tên *Ducampopinus krempfii* (Lec) A. Chev. được coi là tên đồng nghĩa (synonym) (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2010).

1.6. Đặc điểm khu vực nghiên cứu

Cao nguyên Lâm Viên được khám phá bác sĩ Alexandre Yesin, có độ cao trung bình 1500 m so với mực nước biển và có rừng Thông năm lá diện tích lớn (Tập bản đồ Hành chính Việt Nam, 2013). Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà nằm trên địa bàn hành chính Huyện Lạc Dương và một phần Huyện Đam Rông, tỉnh Lâm Đồng trải dài từ 12o00'00" đến 12o52'00" vĩ độ Bắc và từ 108o17'00" đến 108o42'00" độ kinh Đông (Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà, nd). Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà có tính chất địa chất tương đối đồng đều, chủ yếu là hệ macma acid, ngoài ra còn có đá biến chất, phiến thạch và đá vôi; có nhiều loại đất như

đất mùn vàng đỏ phát triển trên đá macma acid, đất mùn vàng đỏ phát triển trên đá biến chất, phiến, đất mùn alit núi cao, đất dốc tụ và đất phù sa sông suối. Địa hình mang đặc trưng của đồi núi bị chia cắt mạnh. Khí hậu đặc trưng bởi gió mùa Tây Nguyên, có lượng bức xạ mặt trời cao, mưa nhiều với hai mùa rõ rệt (Tôn Thất Minh, nd).

1.7. Tình hình nghiên cứu nấm ngoại cộng sinh tại Việt Nam

Nấm rễ được nghiên cứu ở Việt Nam vào những năm 60 của thế kỉ XX và đã đạt được một số thành tựu nhất định nhưng vẫn còn nhiều mặt hạn chế. Một số công trình nghiên cứu về nấm rễ trong nước đã được công bố gần đây. Các nghiên cứu này chủ yếu tập trung trên các cây có múi, cây bắp và họ Sao dầu. Như một số nghiên cứu của Nguyễn Thị Hoàng Yến (2007), Nguyễn Văn Sức và cộng sự (2005), Trần Thị Dạ Thảo (2012), Trần Thị Như Hằng và cộng sự (2012), Nguyễn Thị Kim Liên và cộng sự (2012).

Bên cạnh các nghiên cứu về nấm nội sinh trên, một số nghiên cứu về nấm ngoại cộng sinh cũng đã được thực hiện, như của Phạm Nguyễn Đức Hoàng và Đặng Lê Anh Tuấn (2008), Pham et al. (2012) và Le et al. (2017). Trên cây Thông, Ingleby et al., (2004) đã thu thập và mô tả một số loài nấm ngoại cộng sinh ăn được có ở các khu hệ Thông ba lá (*P. kesiya*) và Thông hai lá (*P. merkusii*) tại khu vực Đà Lạt, Lâm Đồng như *Boletus* spp., *Suilus* spp., *Tylopilus* sp., *Boletellus emodensis*, *Lacterius yolemus*, *Russula* spp., *Cantharellus cibarius*, *Tricholoma auratum* and *Amanita hemibapa* subsp. *javanica*. Và hầu hết các nghiên cứu về nấm cộng sinh chỉ tập trung vào việc trồng rừng Thông ba lá (*P. kesiya*) và Thông hai lá (*P. merkusii*) (Nguyen, 2006).

1.8. Bàn luận về vấn đề nghiên cứu

Trên cơ sở các dẫn liệu tổng quan tổng hợp được từ các tài liệu nghiên cứu về nấm ngoại cộng sinh trong và ngoài nước chúng tôi đưa ra một số các bàn luận sau:

- Trên thế giới có rất nhiều nghiên cứu và công bố liên quan đến đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa và phân loại của các loài

nấm ngoại cộng sinh. Nhiều nghiên cứu đã đánh giá vai trò của nấm ngoại cộng sinh tác động đến sự sinh trưởng và phát triển của các nhóm thực vật trên các khu rừng để bảo tồn.

- Cho đến hiện nay, chúng tôi chưa ghi nhận có một nghiên cứu nào về phân loại cũng như nghiên cứu ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh đến sinh trưởng và phát triển của cây trồng nói chung và trên các nhóm cây thuộc họ Thông nói riêng tại Tây Nguyên, trong đó có hai nhóm là Thông năm lá và Thông hai lá dẹt ở khu vực cao nguyên Lâm Viên.

Vì vậy, kết quả nghiên cứu này bước đầu ghi nhận và bổ sung được danh lục các loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ cây Thông năm lá và Thông hai lá dẹt vào cơ sở dữ liệu nấm ngoại cộng sinh tại Việt Nam và trên thế giới. Bên cạnh đó, chúng tôi bước đầu đánh giá được sự ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh đến sinh trưởng và phát triển của cây con Thông năm lá và hai lá dẹt ở cao nguyên Lâm Viên để làm tiền đề khoa học cho công tác nghiên cứu, bảo tồn các loài Thông đặc hữu ở Việt Nam.

CHƯƠNG 2.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ cây Thông năm lá (*Pinus dalatensis*) và Thông hai lá dẹt (*Pinus krempfii*).

Cây con nảy mầm từ hạt Thông năm lá và Thông hai lá dẹt tái sinh trong khu phân bố của cây trưởng thành.

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

2.2.1. Địa điểm nghiên cứu

- Các khu vực có sự phân bố của cả Thông năm lá và Thông hai lá dẹt tại rừng hỗn giao ở cao nguyên Lâm Viên.
- Phòng thí nghiệm Công nghệ vi sinh, phòng thí nghiệm Công nghệ giống cây trồng, nhà màng của Trường Đại học Đà Lạt.
- Phòng thí nghiệm Công nghệ vi sinh – Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh.

- Phòng thí nghiệm Công nghệ nấm – Khu Nông nghiệp Công nghệ cao Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 11 năm 2016 đến tháng 11 năm 2020.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Điều tra, xác định khu vực nghiên cứu

2.3.1.1. Phương pháp kế thừa

Xác định các khu vực có sự phân bố của Thông năm lá và Thông hai lá dẹt tại Cao Nguyên Lâm Viên dựa trên các Thông tin, tư liệu và các nghiên cứu trước đó, đặc biệt là nghiên cứu của Nguyễn Thành Mến (2012) và nghiên cứu của Lê Cảnh Nam (2016). Tiến hành thiết lập các tuyến điều tra chính xuyên suốt các khu vực đã xác định, khảo sát 20m sang hai bên của tuyến nghiên cứu để xác định khu vực phân bố của quần thể Thông hai lá dẹt và Thông năm lá.

2.3.1.2. Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể Thông năm lá và Thông hai lá dẹt

- Tách chiết DNA: DNA tổng được tách chiết theo quy trình CTAB I (Weising et al., 2005), có bổ sung 10% SDS.

- Phân tích dữ liệu theo phương pháp được mô tả bởi Williams et al. (1990) và Vicente et al. (2003).

- Các Thông số cơ bản về đa dạng di truyền được tính toán bằng ứng dụng POPGENE (Ferrante and Yeh, 2010). Xác định các chỉ số về tính đa hình của các sản phẩm khuếch đại (PPB), chỉ số đa dạng gen của Nei (He) và chỉ số Shannon (I) (Slatkin, 1985; Mcdermott and Mcdonald, 1993).

2.3.2. Nghiên cứu các nhân tố sinh thái vô sinh tại nơi phân bố nấm ngoại cộng sinh

Nghiên cứu các nhân tố sinh thái vô sinh bao gồm một số nhân tố sau: vị trí, độ ẩm, nhiệt độ, pH, EC, hàm lượng nitơ (TCVN 6498:1999), hàm lượng carbon hữu cơ tổng số (TCVN 6642:2000), hàm lượng hữu cơ tổng số (TCVN 4050:1985) acid humic (TCVN 11456:2016).

2.3.3. Phương pháp thu mẫu

Phương pháp thu mẫu nghiên cứu rễ nấm ngoại cộng sinh:
Trong khu hệ rừng hỗn giao có phân bố cây Thông năm lá và Thông hai lá dẹt ở Vườn Quốc gia Bidoup – Núi Bà tiến hành đánh dấu và chọn 25 cây Thông năm lá và 25 cây Thông hai lá dẹt trưởng thành có đường kính ($d_{1.3}$) từ 0.5 m trở lên. Mỗi cây lấy 02 mẫu đối diện nhau qua gốc cây, vị trí lấy mẫu cách gốc cây chủ từ 3 – 5 m theo đường kính tán (ước lượng). Tại mỗi vị trí lấy mẫu, gạt bỏ lớp mặt (lá, cành cây khô, bã xác thực vật, động vật,...), lấy mẫu với kích thước (dài x rộng x sâu) 15 x 15 x 10 cm. Mẫu đất sau khi thu được đựng trong túi PE, dán nhãn Thông tin mẫu sau đó bảo quản trong thùng trữ mẫu và chuyển về phòng thí nghiệm, mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 5°C.

Phương pháp thu mẫu cây con: Thu mẫu ngẫu nhiên cây con Thông hai lá dẹt và Thông năm lá mới nảy mầm và mẫu đất, giá thể xung quanh cây con tại khu vực có sự tái sinh cây con dưới tán cây trưởng thành; thu mẫu cây con khi hạt nảy mầm và bung tầng lá đầu tiên. Sử dụng dao lấy mẫu khoét ô tròn có đường kính 5cm, sâu 5 - 10cm tính từ gốc cây con. Mẫu cây con được đặt trong túi nhựa, dán nhãn, giữ ẩm và chuyển về phòng thí nghiệm. Mẫu cây con sau khi chuyển về phòng thí nghiệm, tiến hành xử lý và đo chiều cao cây, số lá, số rễ và chụp ảnh cây con trước khi chuyển sang trồng và chăm sóc trong vườn ươm.

2.3.4. Phương pháp xử lý mẫu rễ và quan sát đặc điểm hình thái nấm ngoại cộng sinh

Xử lý mẫu rễ và quan sát đặc điểm hình thái nấm ngoại cộng sinh được thực hiện theo phương pháp của Agerer (1987-2002) và Trofymow et al., (2001).

2.3.5. Phương pháp xác định thành phần loài nấm ngoại cộng sinh trên rễ và các cây chủ

Định danh loài nấm ngoại cộng sinh bằng kỹ thuật sinh học phân tử dựa trên trình tự vùng gen ITS1-5,8S-ITS2 (Nara, 2006). Khuếch đại DNA nấm ngoại cộng sinh bằng mồi ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'); ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Gardes et al. 1993) với

chu trình nhiệt như sau: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ với 95°C trong 30 giây, 56°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút, kéo dài ở 72°C trong 10 phút và trữ lạnh tại 4°C.

Cây chủ được định danh dựa trên dữ liệu trình tự DNA lap thể (Tedesoo et al., 2006). Khuếch đại DNA cây chủ bằng mỗi trnC (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3') và trnD (5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3') (Taberlet et al., 1991) với chu trình nhiệt như sau: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ với 95°C trong 1 phút, 55°C trong 1 phút, 72°C trong 2 phút, 72°C 10 phút và trữ lạnh ở 4°C.

2.3.6. Xây dựng cấu trúc khu hệ của nấm ngoại cộng sinh hiện diện trong khu hệ Thông năm lá và hai lá dẹt tại rừng hỗn giao ở cao nguyên Lâm Viên

Chỉ số tính độ đa dạng loài Shannon – Wiener (H'), Chỉ số đa dạng Simpson's (1/D), Chỉ số tính độ đồng đều Pielou's (J), Độ giàu loài (độ phong phú) (D), Độ thường gặp (tần số xuất hiện) (F) (Begon et al., 2006).

2.3.7. Xác định một số loài nấm ngoại cộng sinh đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn tái sinh cây con hướng tới bảo tồn và phát triển hai loài Thông

2.3.7.1. Khảo sát thành phần loài nấm ngoại cộng sinh trong giai đoạn tái sinh cây con bằng mô hình ex situ

Tiến hành trồng và chăm sóc cây con Thông năm lá và hai lá dẹt được thu tại khu vực phân bố của cây trưởng thành vào giá thể khử trùng (45 cây) và không khử trùng (45 cây). Theo dõi các chỉ số sinh trưởng cây con (tỷ lệ sống, chiều cao, đường kính tán) và so sánh sự khác nhau về sinh trưởng giữa cây có nấm ngoại cộng sinh và cây không có nấm ngoại cộng sinh tái sinh trong điều kiện vườn ươm. Đối với các cây sống, tiến hành kiểm tra sự xuất hiện của nấm ngoại cộng sinh, mô tả đặc điểm của chúng và thu nhận chóp nấm để định danh.

2.3.7.2. Khảo sát sự sinh trưởng của cây Thông con trong giai đoạn tái sinh bằng mô hình in situ

Cây Thông con sau khi được trồng, chăm sóc tại điều kiện vườn ươm và sau khi được kiểm tra nấm ngoại cộng sinh trên rễ cây thì chuyển vào trồng (15 cây có nấm ngoại cộng sinh và 15 cây không có nấm ngoại cộng sinh) tại vị trí thu mẫu ban đầu. Theo dõi các chỉ số sinh trưởng cây con (tỷ lệ sống, chiều cao) và so sánh sự khác nhau về sinh trưởng giữa cây có nấm ngoại cộng sinh và cây không có nấm ngoại cộng sinh tái sinh trong điều kiện tự nhiên.

2.3.8. Phương pháp xử lý số liệu

Các dữ liệu trình tự gen được xử lý bằng phần mềm ATGC (Genetyx Corporation, Japan), xây dựng cây quan hệ phát sinh bằng phần mềm MEGA X.

Xử lý số liệu bằng công cụ Data Analysis/Discriptive Statistics trên phần mềm Microsoft Excel 2019, kiểm tra ý nghĩa thống kê theo phép thử Tuskey trên phần mềm *R* (version 4.1.1)

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả điều tra, xác định khu vực nghiên cứu

Chúng tôi chọn khu vực Giang Ly thuộc vườn quốc gia Bidoup Núi Bà để nghiên cứu vì đáp ứng được các tiêu chí:

- (1) Trong khu vực nghiên cứu phải có mặt đồng thời cả hai loài Thông với đủ số lượng cá thể để thu mẫu > 25 cây, đường kính thân (1,3 m) > 0,5 m;
- (2) Độ đa dạng và tính ổn định về mặt di truyền của các quần thể Thông năm lá và Thông hai lá đẹt được nghiên cứu dựa trên các chỉ số tính đa hình, chỉ số đa dạng gen Nei (He) và chỉ số Shannon (I)

Mức độ đa dạng di truyền tổng thể của của quần thể Thông năm lá ở Giang Ly thuộc vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà là khá ổn định với các chỉ số ISSR (He: 0,175; I: 0,2637; PPB: 48,65%), ScoT (He: 0,3061; I: 0,4554; PPB: 83,72%) và Combination (He: 0,2455; I: 0,3667; PPB: 67,5%). Mức độ đa dạng di truyền tổng thể của quần thể Thông hai lá đẹt với các chỉ số ISSR (He: 0,1539; I: 0,2406; PPB: 50%), ScoT (He: 0.2987;

I: 0,4395; PPB: 77,27%) Combination (He: 0,2217; I: 0,3337; PPB: 62,77%). Điều này chứng tỏ cấu trúc quần thể của Thông năm lá và Thông hai lá dẹt ổn định, ít bị tác động.

3.2. Nghiên cứu các nhân tố sinh thái vô sinh tại nơi phân bố nấm ngoại cộng sinh

Qua quá trình nghiên cứu, nhận thấy rằng đối tại khu vực nghiên cứu có nhiệt độ đất trung bình là 17,92°C, độ ẩm trung bình đạt 38,51%, pH trung bình đạt 5,39; EC trung bình đạt 0,035 mS/cm; hàm lượng nitơ tổng số trung bình đạt 0,245%; trung bình hữu cơ tổng số đạt 16,42% và hàm lượng acid humic trung bình đạt 2,71%. Các chỉ số này nằm trong giá trị dao động đối với đất rừng ở độ sâu từ 0 – 30 cm có sự sinh trưởng của cây Thông hai lá dẹt (Lê Cảnh Nam và Nguyễn Thành Mến, 2012).

3.3. Nghiên cứu nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá

Nghiên cứu các loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá tại rừng hỗn giao ở Giang Ly thuộc Vườn Quốc gia Bidoip Núi Bà, căn cứ vào kết quả quan sát đặc điểm đại thể của chóp rễ nấm ngoại cộng sinh và dữ liệu sinh học phân tử từ vùng gen ITS1-5.8S-IT2S, nghiên cứu này ghi nhận được 33 loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá thuộc 13 chi, 12 họ, 10 bộ, 4 lớp, 2 ngành, chi tiết được thể hiện tại bảng 3.4.

Bảng 3.4. Danh lục các loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá tại rừng hỗn giao ở khu vực Giang Ly – Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà

STT	TÊN KHOA HỌC
	Ngành Basidiomycota
	Lớp Agaricomycetes
	Bộ Boletales
	Họ Boletaceae
I.	Chi <i>Tylopilus</i>
1	<i>Tylopilus</i> sp.
II.	Chi <i>Veloporphyrillus</i>

2	<i>Veloporphyrellum vulpinus</i> T.H.G. Pham, O.V. Morozova, A.V. Alexandrova và E.S. Popov (2019)
	Bộ Cantharellales
	Họ Clavulinaceae
3	Clavulinaceae sp.
	Họ Ceratobasidiaceae
III.	Chi <i>Ceratobasidium</i>
4	<i>Ceratobasidium</i> sp1
	Bộ Agaricales
	Họ Cortinariaceae
IV.	Chi <i>Cortinarius</i>
5	<i>Cortinarius elaiops</i> Soop (2008)
6	<i>Cortinarius obtusus</i> (Fr.) (1838)
7	<i>Cortinarius aff. ochrophyllus</i> Fr. (1861)
8	<i>Cortinarius aff. rigens</i> (Pers.) Fr. (1838)
9	<i>Cortinarius scoticus</i> Niskanen và Liimat (2020)
10	<i>Cortinarius vanduzerensis</i> A.H. Sm. và Trappe (1972)
11	<i>Cortinarius vinaceobrunneus</i> Ammirati, Beug, Liimat., Niskanen và O. Ceska (2016)
12	<i>Cortinarius violaceus</i> (L.) Gray (1821)
	Họ Inocybaceae
V.	Chi <i>Inocybe</i>
13	<i>Inocybe</i> sp.
	Bộ Russulales
	Họ Russulaceae
VI.	Chi <i>Lactarius</i>
14	<i>Lactarius glabrigracilis</i> Wissitr. và Nuytinck (2014)
15	<i>Lactarius silviae</i> Pierotti (2015)
16	<i>Lactarius</i> sp1
17	<i>Lactarius</i> sp2
VII.	Chi <i>Russula</i>
18	<i>Russula densifolia</i> Secr. ex Gillet (1876)
19	<i>Russula fellea</i> (Fr.) Fr. (1825)
20	<i>Russula lepida</i> Fr. (1836)
21	<i>Russula peckii</i> Singer (1943)
22	<i>Russula ryukokuensis</i> Y. Shimono và T. Kasuya (2021)

23	<i>Russula sanguinea</i> (Bull.) Fr. (1838)
24	<i>Russula</i> sp. (J.E. Lange) Bon (1972)
25	<i>Russula subrubens</i> (J.E. Lange) Bon (1972)
VIII.	Chi <i>Lactifluus</i>
26	<i>Lactifluus parvigerardii</i> X. H. Wang và D. Stubbe (2012)
	Bộ Thelephorales
	Họ Thelephoraceae
27	<i>Thelephoraceae</i> sp.
IX.	Chi <i>Tomentella</i>
28	<i>Tomentella</i> sp.
	Bộ Atheliales
	Họ Atheliaceae
X.	Chi <i>Piloderma</i>
29	<i>Piloderma</i> sp.
	Bộ Hymenochaetales
	Họ Hymenochaetaceae
XI.	Chi <i>Coltriciella</i>
30	<i>Coltriciella dependens</i> (Berk. và M.A. Curtis) Murrill (1904)
	Lớp Cystobasidiomycetes
	Bộ Cystobasidiales
	Họ Cystobasidiaceae
XII.	Chi <i>Cystobasidium</i>
31	<i>Cystobasidium lysinophilum</i> (Nagah., Hamam., Nakase và Horikoshi) Yurkov, Kachalkin, H.M. Daniel, M. Groenew., Libkind, V. de Garcia, Zalar, Gouliam., Boekhout và Begerow, (2014)
	Ngành Ascomycota
	Lớp Dothideomycetes
	Bộ Mytilinidiales
	Họ Gloniaceae
XIII.	Chi <i>Cenococcum</i>
32	<i>Cenococcum geophilum</i> Fr. (1829)
	Lớp Leotiomycetes
	Bộ Helotiales
	Họ Helotiaceae

33	<i>Helotiales</i> sp.
----	-----------------------

3.4. Nghiên cứu thành phần loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông hai lá dẹt

Bảng 3.5. Danh lục các loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông hai lá dẹt tại rừng hỗn giao ở Giang Ly – Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà

Nghiên cứu các loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông hai lá dẹt tại rừng hỗn giao ở Giang Ly thuộc Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà, căn cứ vào kết quả quan sát đặc điểm đại thể của chóp rễ nấm ngoại cộng sinh và dữ liệu từ vùng gen ITS1-5.8S-IT2S, chúng tôi ghi nhận được 41 loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông hai lá dẹt thuộc 24 chi, 18 họ, 7 bộ, 2 lớp, 2 ngành, chi tiết được thể hiện tại bảng 3.5.

Bảng 3.5. Danh lục các loài nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông hai lá dẹt tại rừng hỗn giao ở Giang Ly – Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà

STT	TÊN KHOA HỌC
	Ngành Basidiomycota
	Lớp Agaricomycetes
	Bộ Agaricales
	Họ Amanitaceae
I.	Chi <i>Amanita</i>
1	<i>Amanita aff. pseudovaginata</i> Hongo (1983)
2	<i>Amanita rubescens</i> Pers. (1797)
	Họ Cortinariaceae
II.	Chi <i>Cortinarius</i>
3	<i>Cortinarius acutus</i> Pers. (1797)
4	<i>Cortinarius obtusus</i> (Fr.) Fr. (1838)
5	<i>Cortinarius jubarinus</i> Fr. (1838)
III.	Chi <i>Thaxterogaster</i>
6	<i>Thaxterogaster pavelekii</i> Trappe, Castellano và P. Rawl. (2000)
	Họ Entolomataceae

IV.	Chi <i>Entoloma</i>
7	<i>Entoloma conferendum</i> (Britzelm.) Noordel. (1980)
	Họ Inocybaceae
V.	Chi <i>Inocybe</i>
8	<i>Inocybe cf. dulcamara</i> (Pers.) P. Kumm. (1871)
	Họ Mycenaceae
VI.	Chi <i>Mycena</i>
9	<i>Mycena chlorophos</i> (Berk. và M.A. Curtis) Sacc. (1887)
	Họ Lyophyllaceae
VII.	Chi <i>Rugosomyces</i>
10	<i>Rugosomyces cyanellus</i> (Singer ex Redhead và Singer) Bon (1991)
	Họ Omphalotaceae
VIII.	Chi <i>Gymnopus</i>
11	<i>Gymnopus</i> sp.
	Họ Tricholomataceae
IX.	Chi <i>Tricholoma</i>
12	<i>Tricholoma mongolicum</i> S. Imai (1938)
	Bộ Boletales
	Họ Boletaceae
X.	Chi <i>Boletus</i>
13	<i>Boletus apaciosus</i> Frost (1874)
14	<i>Boletus roseopurpureus</i> Both (2000)
XI.	Chi <i>Tylopilus</i>
15	<i>Tylopilus</i> sp.
XII.	Chi <i>Veloporphyrellus</i>
16	<i>Veloporphyrellus vulpinus</i> T.H.G. Pham, O.V. Morozova, A.V. Alexandrova và E.S. Popov (2019)
XIII.	Chi <i>Xerocomus</i>
17	<i>Xerocomus</i> sp.
	Họ Paxillaceae
XIV.	Chi <i>Paxillus</i>
18	<i>Paxillus adelphus</i> Chaumeton JP, Gryta H, Jargeat P, Moreau P-A. (2016)
	Bộ Cantharellales

	Họ Hydnaceae
XV.	Chi <i>Clavulina</i>
19	<i>Clavulina</i> sp.
	Bộ Russulales
	Họ Russulaceae
XVI.	Chi <i>Lactarius</i>
20	<i>Lactarius alnicola</i> A.H. Sm. (1960)
21	<i>Lactarius alpinus</i> Peck (1875)
22	<i>Lactarius caespitosus</i> Hesler và A.H. Sm. 1979)
23	<i>Lactarius camphoratus</i> (Bull.) Fr. (1838)
24	<i>Lactarius hatsudake</i> Nobuj. Tanaka (1890)
25	<i>Lactarius scrobiculatus</i> (Scop.) Fr. (1838)
XVII.	Chi <i>Lactifluus</i>
26	<i>Lactifluus deceptivus</i> (Peck) Kuntze (1891)
27	<i>Lactifluus</i> sp.
XVIII.	Chi <i>Russula</i>
28	<i>Russula amethystina</i> Quél. (1898)
29	<i>Russula crenulata</i> Burl. (1913)
30	<i>Russula cyanoxantha</i> (Schaeff.) Fr. (1863)
31	<i>Russula lepida</i> Fr. (1836)
32	<i>Russula</i> sp1
33	<i>Russula</i> sp2
34	<i>Russula</i> sp3
	Bộ Polyporales
	Họ Polyporaceae
XIX.	Chi <i>Microporus</i>
35	<i>Microporus xanthopus</i> (Fr.) Kuntze (1898)
	Họ Phanerochaetaceae
XX.	Chi <i>Phanerochaete</i>
36	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> Burds. (1974)
	Họ Meruliaceae
XXI.	Chi <i>Scopuloides</i>
37	<i>Scopuloides hydroides</i> (Cooke và Masee) Hjortstam và Ryvarden, (1979)
	Họ Xenasmataceae

XXII.	Chi <i>Xenasmattella</i>
38	<i>Xenasmattella</i> sp.
	Bộ Thelephorales
	Họ Thelephoraceae
XXIII.	Chi <i>Polyozellus</i>
39	<i>Polyozellus atrolazulinus</i> Trudell và Kõljalg, Mycologia 109 (6): 985 (2018)
XXIV.	Chi <i>Tomentella</i>
40	<i>Tomentella lateritia</i> Pat., Journal de Botanique (Morot) 8: 221 (1894)
	Ngành Ascomycota
	Lớp Leotiomycetes
	Bộ Helotiales
	Họ Helotiaceae
41	<i>Helotiales</i> sp.

3.5. Phân tích cấu trúc quần xã nấm ngoại cộng sinh trong khu hệ Thông năm lá và hai lá dẹt

Quần xã nấm ngoại cộng sinh trên cây Thông năm lá và hai lá dẹt rất đa dạng và phong phú. Chỉ số Shannon-Wiener (H') của cả hai loài Thông đều đạt giá trị lần lượt là 3.339 và 3.383, đồng thời chỉ số Simpson's ($1/D$) của hai loài lần lượt là 23.902 và 20.962, tất cả các chỉ số trên cho thấy quần xã nấm ngoại cộng sinh trên cây Thông năm lá và hai lá dẹt là những quần xã có độ đa dạng khá cao. Bên cạnh đó, chỉ số Pielou's dao động từ 0.911 – 0.955 đối với cây hai lá dẹt và năm lá, chỉ số này tiệm cận 1 thể hiện cho việc quần xã nấm ngoại cộng sinh trên cả hai đối tượng này có sự phân bố đồng đều nhau.

3.6. Kết quả nghiên cứu nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ cây con Thông năm lá và Thông hai lá dẹt

- Trên hệ rễ cây con Thông năm lá, một số loài nấm ngoại cộng sinh đã được ghi nhận, bao gồm: *Cenococcum geophilum*, *Helotiales* sp. và *Hyaloscypha* sp.
- Trên hệ rễ cây con Thông hai lá dẹt, một số loài nấm ngoại cộng sinh đã được ghi nhận, bao gồm: *Blakeslea trispora*, *Cenococcum geophilum* và *Tylospora* sp.

3.7. Nghiên cứu tác động của nấm ngoại cộng sinh lên sự sinh trưởng và phát triển của cây con Thông năm lá và Thông con hai lá dẹt

3.7.1. Nghiên cứu tác động của nấm ngoại cộng sinh lên sự sinh trưởng và phát triển của cây con Thông năm lá

Sau sáu tháng trồng và chăm sóc 90 cây con Thông năm lá tại vườn ươm, chúng tôi ghi nhận rằng tỷ lệ sống sót của Thông năm lá trên cơ chất không khử trùng cao hơn tỷ lệ sống sót trên môi trường khử trùng (66.66% so với 44,44%). Hơn thế nữa, trong môi trường không khử trùng hệ rễ Thông năm lá nhiễm nấm ngoại cộng sinh đạt 60%, trong khi đó cây con trồng trên giá thể khử trùng, chỉ có 50% cây nhiễm nấm ngoại cộng sinh.

3.7.2. Nghiên cứu tác động của nấm ngoại cộng sinh lên sự sinh trưởng và phát triển của cây con hai lá dẹt trong vườn ươm

Cây con Thông hai lá được trồng và chăm sóc trong vườn ươm, sau sáu tháng chúng tôi thu nhận rằng khi hệ rễ của Thông non hai lá dẹt có nấm ngoại cộng sinh thì tốc độ sinh trưởng của cây thể hiện qua chiều cao, đường kính và số lá (8,4 mm 7,24 mm, 7.62 lá) cao hơn so với hệ rễ Thông hai lá dẹt không có nấm ngoại cộng sinh (7,2 mm, 7,16 mm và 6.29 lá).

3.7.3. Nghiên cứu tác động của nấm ngoại cộng sinh lên sự sinh trưởng và phát triển của cây con Thông năm lá và Thông hai lá dẹt trong tự nhiên

Trong tự nhiên, sau 8 tháng trồng, cây con Thông năm lá có nấm ngoại cộng sinh có tỷ lệ sống cao hơn so với cây không có nấm ngoại cộng sinh (71,43% so với 57,14%). Tốc độ tăng trưởng chiều cao của cây có nấm ngoại cộng sinh cũng cao hơn cây không có nấm ngoại cộng sinh là 7,09 mm/tháng và 6,51 mm/tháng.

Tương tự như vậy, đối với cây con Thông hai lá dẹt, tỷ lệ sống của cây có nấm ngoại cộng sinh là 86,7% cao hơn so với cây không có nấm là 73,3%. Tốc độ tăng trưởng chiều cao cũng

tương tự với tốc độ tăng trưởng trung bình đạt 2,43mm/tháng và 2,07 mm/tháng.

Vì vậy, trên cơ sở nghiên cứu bước đầu khẳng định được vai trò của nấm ngoại cộng sinh có ảnh hưởng tích cực đến sự phát triển của cây con Thông năm lá và cây con Thông hai lá dẹt. Chúng có khả năng làm tăng tỷ lệ sống, thúc đẩy sinh trưởng của cây con trồng trong điều kiện vườn ươm (*in situ*) và ngoài tự nhiên (*ex situ*).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

1. Quần thể Thông năm lá (*P. dalatensis*) và Thông hai lá dẹt (*P. krempfii*) cùng phân bố trong kiểu rừng kín hỗn giao cây lá rộng lá kim tại khu vực Giang Ly thuộc Vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà với số lượng cá thể trong quần thể trên 25. Khu vực nghiên cứu với khí hậu rừng á nhiệt đới, độ ẩm đất trung bình 38,5; đất có tính acid (pH trung bình: 5,39), Ec đất: 0,035 mS/cm; lượng dinh dưỡng trung bình ở mức thấp (N tổng số: 0,245%; hữu cơ tổng số: 16,42%)

2. Thành phần khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ Thông năm lá và Thông hai lá dẹt:

- Trên hệ rễ Thông năm lá xác định được 33 loài nấm ngoại cộng sinh, thuộc 13 chi, 12 họ, 10 bộ, 4 lớp, 2 ngành.
- Trên hệ rễ cây Thông hai lá dẹt xác định được 41 loài thuộc 24 chi, 18 họ, 7 bộ, 2 lớp, 2 ngành.

3. Quần xã nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ cây Thông năm lá và Thông hai lá dẹt có độ đa dạng cao. Đối với khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên cây Thông năm lá các loài *Russula sanguinea* và *Russula ryukokuensis* lần lượt được xác định là loài có độ phong phú cao. Đối với khu hệ nấm ngoại cộng sinh trên cây Thông hai lá dẹt, *Cortinarius acutus* là loài có độ phong phú cao.

4. Trên hệ rễ cây con Thông năm lá xác định được 03 loài nấm ngoại cộng sinh là *Cenococcum geophilum*, *Helotiales* sp., và *Hyaloscypha* sp. Đối với hệ rễ cây con Thông hai lá dẹt, bước

đầu ghi nhận có 03 loài: *Tylospora* sp., *Cenococcum geophilum* và *Blakeslea trispora* được xác định là nấm ngoại cộng sinh ban đầu trên hệ rễ cây con.

5. Nấm ngoại cộng sinh có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây con Thông năm lá và cây con Thông hai lá dẹt. Cụ thể, đối với cây con Thông năm lá trồng trên giá thể không vô trùng, có nấm ngoại cộng sinh tỷ lệ sống đạt 60%, tốc độ tăng trưởng trung bình hàng tháng đạt 9 mm trong điều kiện vườn ươm (*in situ*) và 7,09 mm trong điều kiện ngoài tự nhiên (*ex situ*); Đối với cây con Thông hai lá dẹt trồng trên giá thể không vô trùng, tỷ lệ sống đạt 67,57%, tốc độ tăng trưởng trung bình hàng tháng đạt 8,4 mm trong điều kiện vườn ươm (*in situ*) và 2,43 mm trong điều kiện ngoài tự nhiên (*ex situ*)

4.2. Một số vấn đề tồn tại của luận án

Do những hạn chế về thời gian, điều kiện nghiên cứu trong phòng thí nghiệm cũng như ngoài thực địa, luận án còn những tồn tại sau:

- Chưa xác định được nhóm nấm ngoại cộng sinh đóng vai trò chủ đạo tác động đến sinh trưởng cũng như hỗ trợ tái sinh rừng.
- Chưa đánh giá được sự ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh đến sự tái sinh cây con từ hạt.

4.3. Kiến nghị

Tiếp tục các nghiên cứu để xác định các nhóm nấm ngoại cộng sinh ưu thế và nhân nuôi, tạo sinh khối để hỗ trợ sinh trưởng cây Thông con và tái sinh rừng.

Cần nghiên cứu và chủ động phân lập, nuôi cấy và gây nhiễm các nhóm nấm ngoại cộng sinh để đánh giá tác động của chúng đến tỷ lệ nảy mầm của hạt và quá trình tái sinh cây thông con trong tự nhiên.

Tiếp tục nghiên cứu, đánh giá được sự ảnh hưởng của từng nhân tố sinh thái đến thành phần loài nấm ngoại cộng sinh tại khu vực rừng hỗn giao Thông năm lá và Thông hai lá dẹt ở khu vực Cao nguyên Lâm Viên.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyen Khoa Truong, Tran Van Tien, Le Ngoc Trieu, Nguyen Van Giang, Truong Thi Lan Anh, Nguyen Hoang Nghia and Hoang Thanh Truong (2019). Geographical variation in vegetative growth, sexual reproduction and genetic diversity of *Pinus krempfii* H. Lec. and *Pinus dalatensis* Ferré in Tay Nguyen Plateau. *Annual Report of Pro Natura Foundation Japan*, 28, 211 – 223.
2. Nguyễn Khoa Trường, Lê Bá Dũng, Phạm Nguyễn Đức Hoàng, Ngô Thùy Trâm, Phan Trung Trực (2020). Nghiên cứu đặc điểm hình thái nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ cây con Thông hai lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte) tại Giang Ly vườn Quốc gia Bidoup núi Bà. *Tạp chí di truyền và ứng dụng, Chuyên san Nấm và Công nghệ Sinh học*, 106-114, ISSN: 0866-8566.
3. Nguyễn Khoa Trường, Lê Bá Dũng, Phạm Nguyễn Đức Hoàng, Ngô Thùy Trâm, Phan Trung Trực (2021). Nghiên cứu đặc điểm hình thái nấm ngoại cộng sinh trên hệ rễ cây con Thông năm lá (*Pinus dalatensis* Ferre) tại Giang Ly vườn Quốc gia Bidoup Núi Bà. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Tây Nguyên*, 47, 80-85, ISSN 1859-4611.